

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
11 novembre 2004 (11.11.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2004/097380 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ :
G01N 21/25, 21/64, B01L 3/00

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2004/050162

(22) Date de dépôt international : 21 avril 2004 (21.04.2004)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
03/50124 23 avril 2003 (23.04.2003) FR

(71) Déposants (pour tous les États désignés sauf US) : COM-
MISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE [FR/FR];
31-33, rue de la Fédération, F-75752 Paris 15ème (FR).
BIOMERIEUX SA [FR/FR]; Chemin de l'Orme, F-69280
Marcy l'Etoile (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : POUTEAU,
Patrick [FR/FR]; 10, allée Château Corbeau, F-38240
Meylan (FR). BEC, Daniel [FR/FR]; 32, rue de Gascogne,
F-31270 Villeneuve-Tolosane (FR). LE BRUN, Stéphane
[FR/FR]; 10, rue du 14 juillet, F-31390 Carbonne (FR).

(74) Mandataire : LEHU, Jean; BREVATOME, 3, rue du
Docteur Lancereaux, F-75008 Paris (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO,
CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,
GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG,
KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG,
MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH,
PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT,
BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR,
HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),
OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

- avec rapport de recherche internationale
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des
revendications, sera republiée si des modifications sont re-
çues

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(54) Title: BIOCHIP WITH INDEPENDENT RECOGNITION AREAS AND OPTICAL FORMAT AND FLOAT SCANNING
THEREOF

(54) Titre : BIOPUCE A ZONES DE RECONNAISSANCE ET FORMAT OPTIQUE INDEPENDANTS ET SA LECTURE FLOT-
TANTE

(57) Abstract: The invention concerns a biochip comprising a plurality of molecular recognition areas distributed in a specific arrangement to constitute a format of molecular recognition areas and means for optically localizing the positioning of each molecular recognition area, distributed in a specific arrangement to constitute an optical format. The optical format and the format of the recognition areas are formats provided independently of each other, means for determining the relative position of the two formats being provided on the biochip. The invention also concerns a device for scanning such a biochip.

(57) Abrégé : L'invention concerne une biopuce comportant une pluralité de zones de reconnaissance moléculaire réparties selon un agencement déterminé pour constituer un format de zones de reconnaissance moléculaire et des moyens de repérage optique du positionnement de chaque zone de reconnaissance moléculaire, répartis selon un agencement déterminé pour constituer un format optique. Le format optique et le format de zones de reconnaissance sont des formats réalisés de manière indépendante l'un de l'autre, des moyens de détermination de la position relative des deux formats étant prévus sur la biopuce. L'invention concerne aussi un dispositif de lecture d'une telle biopuce.



WO 2004/097380 A1

**BIOPUCE A ZONES DE RECONNAISSANCE ET FORMAT OPTIQUE
INDEPENDANTS ET SA LECTURE FLOTTANTE**

DESCRIPTION

5 DOMAINE TECHNIQUE

La présente invention concerne une biopuce comportant une pluralité de zones de reconnaissance moléculaire et des repères optiques permettant de déterminer quelles sont les zones de reconnaissance
10 moléculaire qui sont effectivement lues.

L'invention concerne également la lecture d'une telle biopuce et en particulier son dispositif de lecture.

15 ETAT DE LA TECHNIQUE ANTERIEURE

Le document FR-A-2 784 189 (correspondant au brevet américain N° 6 537 801) divulgue une biopuce comportant une pluralité de zones de reconnaissance moléculaire et un dispositif de lecture d'une telle
20 biopuce. Il décrit en particulier un premier système mécanique permettant le balayage par une tête optique de lecture d'une biopuce présentant des repères optiques, et un asservissement de la position précise de la tête optique par ce premier système mécanique ou
25 par un second système mécanique plus spécialisé. Cet asservissement de la position de la tête optique par rapport aux repères optiques est plus communément appelé suivi de piste (ou « tracking » en anglais) dans le domaine des disques compacts ou CD. C'est par ce
30 système d'asservissement de la position précise de la

tête optique qu'une lecture précise de la fluorescence est possible. Les motifs de repérage optique positionnés sur la biopuce peuvent se présenter sous forme de pistes.

5 C'est le format optique constitué par les motifs de repérage qui donne l'information de position de la lecture de fluorescence effectuée. Le format permet de repositionner en permanence la tête optique sur sa trajectoire idéale. C'est grâce au format
10 optique qu'il est possible de savoir si l'information de fluorescence enregistrée provient de telle ou telle zone de reconnaissance. Ceci nécessite donc des motifs spécifiques pour indiquer le passage d'une zone de reconnaissance à une autre par exemple. Ceci nécessite
15 aussi une numérotation, au moins partielle, des pistes de lecture ou bien une maîtrise absolue du saut de piste lors du balayage de la biopuce. L'information de fluorescence peut ainsi être directement enregistrée et corrélée à telle ou telle zone de reconnaissance
20 positionnée sur la biopuce.

L'enseignement du document FR-A-2 784 189 constitue un progrès important par rapport aux techniques précédemment utilisées. Cependant, tout défaut de positionnement relatif sur la biopuce entre
25 les zones de reconnaissance et les motifs constituant le format optique est une source d'erreur. A titre d'exemple, un défaut de positionnement de l'ensemble des zones de reconnaissance peut faire apparaître un décalage tel qu'une piste du format optique se retrouve
30 sur la frontière entre deux zones de reconnaissance adjacentes. Ce type de défaut est problématique car il

peut occasionner des erreurs de lecture en attribuant une mesure de fluorescence à l'une ou l'autre des sondes biologiques adjacentes. Ainsi, il existe une contrainte forte sur la technologie de réalisation des zones de reconnaissance en termes de positionnement sur le substrat pourvu de son format optique. Un défaut de positionnement supérieur ou égal au demi-pas des pistes de lecture, dans l'axe perpendiculaire à celui utilisé pour le suivi des pistes du format optique, nécessite obligatoirement une action corrective qui peut aboutir à la mise au rebut d'une telle biopuce.

Par ailleurs, le système d'asservissement de la position de la tête optique est complexe d'un point de vue mécanique et électronique. Un format optique spécifique doit de plus être réalisé, fonction de la taille et du pas des zones de reconnaissance.

Un dernier inconvénient de cette méthode est la limitation du pas d'échantillonnage, dans la direction perpendiculaire aux pistes, au saut de piste.

EXPOSÉ DE L'INVENTION

La présente invention permet de remédier à ces problèmes et en particulier à tout défaut de positionnement entre le format optique et les zones de reconnaissance.

Plutôt que d'asservir en permanence la tête optique de lecture grâce aux informations fournies par les repères du format optique, comme l'enseigne le document FR-A- 2 784 189, il est prévu selon la présente invention de laisser la tête optique de lecture parcourir son chemin de balayage prédéfini sur

la surface de la biopuce par son système associé et d'enregistrer simultanément les informations de fluorescence et celles de positionnement issues du format optique. Aucun asservissement ni correction de positionnement de la tête optique ne sont réalisés dans le plan de la biopuce. Par contre, une fois l'enregistrement de la fluorescence totalement ou partiellement effectué, chaque mesure est repositionnée informatiquement sur une biopuce fictive à l'aide de l'information de position enregistrée grâce au format optique pendant la mesure de fluorescence. Tout défaut de linéarité de balayage ou de régularité de balayage est alors compensé pour donner la véritable origine spatiale (sur la biopuce) de l'information de fluorescence enregistrée.

La solution proposée par l'invention est simplificatrice du point de vue du système mécanique et électronique puisqu'elle élimine tout asservissement de positionnement de la partie optique du lecteur.

Un premier objet de la présente invention consiste en une biopuce comportant une pluralité de zones de reconnaissance moléculaire utiles réparties selon un agencement déterminé pour constituer un format de zones de reconnaissance moléculaire et des moyens de repérage optique du positionnement de chaque zone de reconnaissance moléculaire, répartis selon un agencement déterminé pour constituer un format optique, caractérisée en ce que le format optique et le format de zones de reconnaissance sont des formats réalisés de manière indépendante l'un de l'autre, des moyens de détermination de la position relative des deux formats

étant prévus sur la biopuce. Ainsi, le format optique et les zones de reconnaissance moléculaire peuvent être indépendants spatialement. En particulier, ils ne sont pas nécessairement alignés l'un par rapport à l'autre.

5 Avantageusement, les moyens de détermination de la position relative des deux formats sont des zones de reconnaissance moléculaire destinées à recevoir des cibles biologiques spécifiques permettant d'obtenir des motifs fluorescents, ces zones
10 de reconnaissance moléculaire destinées à recevoir des cibles biologiques spécifiques étant disposées à des endroits parfaitement localisés par rapport aux zones de reconnaissance moléculaire utiles.

De préférence, les moyens de repérage
15 optique sont constitués d'une succession de zones gravées et non gravées dans le substrat ou dans une couche superficielle du substrat pour un substrat composite. Ces zones gravées et non gravées peuvent constituer un damier. Les zones du damier peuvent
20 présenter des directions obliques par rapport aux zones de reconnaissance moléculaire.

De préférence, la surface de chaque zone de reconnaissance est plus grande que la surface d'une zone gravée ou d'une zone non gravée du format optique.
25 Elle peut par exemple correspondre à une pluralité de fois la surface d'une zone gravée.

Les zones de reconnaissance moléculaire peuvent être disposées sur le format optique. Une couche, ou un empilement de couches minces, favorisant
30 la réflexion d'un faisceau optique de suivi du format optique peut être disposée entre le format optique et

les zones de reconnaissance moléculaire. Cette couche participe également à l'asservissement de la position de la tête optique dans la direction perpendiculaire au plan du substrat.

5 Un deuxième objet de la présente invention consiste en un dispositif de lecture d'une biopuce telle que définie ci-dessus, comprenant :

- une première tête optique apte à projeter sur la biopuce une première lumière incidente,

10 - des premiers moyens permettant d'effectuer un balayage de la biopuce par la première lumière incidente,

- une deuxième tête optique apte à projeter sur la biopuce une deuxième lumière incidente,

15 - des deuxièmes moyens permettant d'effectuer un balayage de la biopuce par la deuxième lumière incidente,

- un premier système optique associé à une tête optique pour projeter sur un premier capteur
20 optoélectronique une première lumière provenant de la biopuce en relation avec la première lumière incidente et mettant en évidence la présence ou l'absence de molécules cibles sur chaque zone de reconnaissance moléculaire, le premier capteur optoélectronique étant
25 apte à fournir des signaux correspondant à la première lumière,

- un deuxième système optique associé à une tête optique pour projeter sur un deuxième capteur
30 optoélectronique une deuxième lumière provenant du format optique de la biopuce en relation avec la deuxième lumière incidente, le deuxième capteur

optoélectronique étant apte à fournir des signaux correspondant à la deuxième lumière,

- des premiers moyens d'enregistrement d'au moins une partie des signaux correspondant à la première lumière,

- des deuxièmes moyens d'enregistrement d'au moins une partie des signaux correspondant à la deuxième lumière,

- des moyens de traitement desdits signaux pour ajuster, sur une biopuce fictive et en fonction des moyens de détermination de la position relative des deux formats, les signaux correspondant à la première lumière et les signaux correspondant à la deuxième lumière.

Avantageusement, les première et deuxième têtes optiques peuvent être confondues. Les moyens de traitement peuvent être des moyens informatiques traitant lesdits signaux au fur et à mesure de leur acquisition ou après acquisition complète sur toute la biopuce par exemple.

Le dispositif de lecture peut comporter un système mécanique, ou système d'autofocus, permettant de conserver la focalisation du faisceau de lecture à la surface de la biopuce. Ce système d'autofocus peut comprendre un actionneur piézoélectrique et des moyens d'asservissement de cet actionneur.

BRÈVE DESCRIPTION DES DESSINS

L'invention sera mieux comprise et d'autres avantages et particularités apparaîtront à la lecture de la description qui va suivre, donnée à titre

d'exemple non limitatif, accompagnée des dessins annexés parmi lesquels :

- la figure 1 est une vue de dessus d'une biopuce selon la présente invention,
- 5 - la figure 2 est une vue agrandie d'une partie de la biopuce représentée à la figure 1 et montrant des éléments constitutifs du format optique,
- la figure 3 est une vue partielle et en coupe transversale d'une biopuce selon l'invention et
- 10 montrant des éléments constitutifs du format optique,
- la figure 4 est une représentation schématique simplifiée d'un dispositif de lecture conforme à l'invention,
- la figure 5 est un schéma d'un premier
- 15 exemple de balayage du faisceau de lecture sur des zones de reconnaissance,
- la figure 6 est un schéma d'un deuxième exemple de balayage du faisceau de lecture sur des zones de reconnaissance,
- 20 - la figure 7 montre une répartition possible des points de lecture obtenus sur une zone de reconnaissance, grâce à la présente invention.

EXPOSÉ DÉTAILLÉ DE MODES DE RÉALISATION PARTICULIERS

25 La figure 1 est une vue de dessus d'une biopuce selon la présente invention. La biopuce peut être réalisée par exemple sur une plaque de silice 1 transparente au faisceau de lecture. Les parties grisées sont des parties comportant le format optique.

30 Beaucoup de formats optiques sont utilisables par la présente invention. Celui décrit ici n'est qu'un mode

de réalisation avantageux. Le format optique va être décrit en relation avec la figure 2 qui est une vue agrandie d'une partie de la figure 1. La biopuce peut également être réalisée sur du verre ou sur un
5 plastique transparent, la lecture se faisant au travers de la plaque. Elle peut aussi être réalisée sur un substrat non transparent, la lecture s'effectuant alors par le dessus, c'est-à-dire sans traverser le substrat.

Comme le montre plus clairement la figure
10 2, le format optique peut être constitué d'une matrice de zones gravées 2 et non gravées 3 par exemple en forme de losange ou de carré. Chaque diagonale d'une zone gravée ou non gravée peut avoir 5 μm de longueur.

Le format optique peut comporter une
15 rupture 5 de façon à donner une indication de délimitation grossière de la partie où sont réalisées les zones de reconnaissance biologique et ainsi fournir, lorsque le balayage est linéaire, un point de départ pour les mesures. La zone délimitée par la zone
20 de rupture doit avoir une dimension suffisante pour englober les zones de reconnaissance biologique quelle que soit l'imprécision de positionnement de la technique de réalisation des zones de reconnaissance biologique. La surface d'une zone gravée ou d'une zone
25 non gravée correspond approximativement à la surface de la tache du faisceau de lecture.

Pour un substrat en silice, en silicium ou en verre, la gravure peut être réalisée par une technique de gravure RIE bien connue dans le domaine
30 des microtechnologies. Suivant la conception de l'optique du lecteur, cette gravure peut être modifiée

dans une gamme pouvant aller de 20 nm à plusieurs centaines de nanomètres. Pour un substrat en plastique, des techniques de moulage ou d'emboutissage à chaud peuvent être utilisées.

5 La figure 3 est une vue partielle et en coupe transversale de la biopuce des figures 1 et 2. Elle montre des zones gravées 2 et des zones non gravées 3. La coupe a été faite selon un axe correspondant à des diagonales de zones gravées et non
10 gravées successives.

 Pour assurer un fonctionnement optimal des détections de position du format optique, on dépose sur la face gravée ou plus généralement sur la face structurée de la plaque une couche optique 6 ou un
15 empilement de couches optiques permettant d'assurer une réflectivité par exemple de l'ordre de 10% de la lumière incidente. La couche 6 peut être une couche de nitrure de silicium de l'ordre de 80 nm d'épaisseur, présentant un indice de réfraction égal à 2. D'autres
20 matériaux avec d'autres indices peuvent être utilisés suivant la réflectivité désirée, par exemple TiO_2 , Ta_2O_5 , HfO_2 , ZnO , MgO , SiO_2 , MgF_2 , YF_3 , Al_2O_3 , ZrO_4Ti , Y_2O_3 , le diamant et les oxynitrures. Il s'agit là d'une optimisation système en fonction d'un grand nombre de
25 paramètres : niveau de la fluorescence à mesurer, transmission de l'optique de collection, puissance du laser, nature du substrat ainsi que du milieu dans lequel se situe la biopuce, etc...

 Le format optique choisi ici offre
30 l'avantage d'être symétrique par rapport aux deux axes.

Ceci garantit une précision de positionnement équivalente sur les deux axes.

La référence 7, sur la figure 3, schématise les biomolécules des zones de reconnaissance
5 moléculaire qui sont fixées sur la couche optique 6, ces biomolécules n'étant pas représentées à l'échelle.

La figure 4 est une représentation schématique simplifiée d'un dispositif de lecture conforme à l'invention.

10 Le dispositif comprend un laser 11 émettant un faisceau qui est traité par une lentille de collimation 12 et un système 13 de prismes anamorphiques et de filtrage monochromatique.

Le faisceau traité passe au travers d'un
15 cube séparateur 14 pour être réfléchi par le miroir dichroïque 15 vers un miroir 26. Le miroir 26 renvoie le faisceau laser vers la biopuce 10 après passage dans une lentille de focalisation 27. Le faisceau d'excitation traverse la biopuce 10 pour être focalisé
20 sur la face de la biopuce opposée à la lentille 27.

La lentille de focalisation 27 recueille la lumière de fluorescence émise par les biomolécules en réponse à la lumière d'excitation et qui est dirigée vers le miroir 26 pour être réfléchie par ce miroir
25 vers le capteur optoélectronique 18 après passage au travers du filtre passe-haut 16, de la lentille de convergence 17 et du diaphragme confocal 19.

La lentille de focalisation 27 recueille aussi la lumière d'excitation renvoyée par le format
30 optique. Cette lumière renvoyée se réfléchit sur le miroir 26, puis sur le miroir dichroïque 15 en

direction du cube séparateur 14. Elle est alors renvoyée vers un deuxième cube séparateur 20 qui réfléchit une partie de cette lumière vers la photodiode 21 et l'autre partie vers la photodiode 23 après passage au travers de la lentille de focalisation 22.

L'information fournie par la photodiode 21 contient les données relatives au format optique, qui seront traitées conjointement au signal de fluorescence.

L'information fournie par la photodiode 23 sert, quant à elle, pour l'asservissement de la position de la lentille de focalisation 27 sur l'axe optique, car il reste nécessaire de maintenir, comme pour les lecteurs CD traditionnels, un système d'autofocus. Ce système est classiquement basé sur l'asservissement d'un actionneur à commande électromagnétique. Un problème supplémentaire existe dans le cadre du balayage par aller-retour de la biopuce. En effet, il se peut que les phases de renversement du sens de déplacement s'effectuent dans des zones pour lesquelles aucun signal de réflexion n'est disponible (hors de la biopuce par exemple). Un système d'asservissement traditionnel ne peut s'en affranchir et nécessiterait une phase de recherche de focus à chaque changement de ligne en début de ligne. Pour éviter cette perte de temps, le système d'autofocus proposé permet de maintenir en position l'actionneur à la fin de chaque ligne pour reprendre la lecture en sens inverse dans la même position de focalisation que celle obtenue pour la fin de la ligne

précédente. Une solution consiste par exemple à utiliser un actionneur piézo-électrique permettant un maintien en position en fin de ligne par maintien de la consigne.

5 Dans ce système, le format optique est éclairé en même temps que les fluorophores des biomolécules sont excités. L'éclairement du format et l'excitation des fluorophores peuvent être réalisés par des sources de lumières différentes ou identiques. Un
10 enregistrement des deux types d'information est alors effectué pendant ce balayage. L'information des mesures de fluorescence est enregistrée en même temps que l'information issue du format optique.

15 Les deux enregistrements donnent lieu à la création des deux fichiers informatiques et c'est par traitement informatique que sont ensuite réalisées toutes les opérations donnant lieu à une information de lecture des biopuces. Le traitement peut mettre en œuvre en particulier des méthodes de convolution. Ce
20 traitement peut être effectué une fois terminée la lecture complète de la biopuce. Il peut également se dérouler au fur et à mesure des acquisitions pendant le balayage, ce qui peut permettre, entre autres, de limiter le nombre d'informations à stocker.

25 Avec les biopuces utilisées, le positionnement relatif des zones de reconnaissance moléculaire par rapport au format optique est connu. En effet, lors de l'hybridation des cibles biologiques marqués, certaines cibles spécifiques ont été
30 introduites. Ces cibles spécifiques permettent d'obtenir des motifs fluorescents à des endroits

spécifiques et prédéfinis de la biopuce, par exemple aux quatre coins de la partie située à l'intérieur de la zone 5 (voir la figure 1). Ces motifs fluorescents servent de repères et permettent de connaître la position relative du format optique par rapport aux positions des zones de reconnaissance moléculaire. Les endroits spécifiques peuvent être des matrices de 4 zones sur 4 zones, chaque zone possédant 30 μ m de côté et une zone sur deux possédant des sondes biologiques aptes à recevoir des cibles spécifiques (zones de reconnaissance spécifiques). Bien entendu, la taille des motifs peut être plus grande ou plus petite. Ces zones de reconnaissance spécifiques peuvent être disposées aléatoirement ou non dans le motif. Elles peuvent être également d'intensités différentes.

Les positions des zones de reconnaissance sont déterminées de manière sûre par leur technique de réalisation, par exemple au moyen de masques de photolithographie. Ainsi, on connaît la position relative du format de zones de reconnaissance et du format optique. Chaque mesure de fluorescence étant corrélée à une information de position, on peut par un traitement informatique repositionner cette mesure par rapport aux positions réelles des zones de reconnaissance.

Ce système n'oblique pas un positionnement parfait sur la biopuce des zones de reconnaissance par rapport aux motifs constituant le format optique. Il n'impose pas non plus obligatoirement une lecture régulière et homogène de chaque zone de reconnaissance moléculaire. Ainsi, un nombre important de lecture par

zone de reconnaissance permet de donner une mesure tout autant fiable de la valeur de fluorescence d'une sonde biologique qu'une lecture régulière et homogène.

La figure 5 est un schéma d'un premier
5 exemple de balayage du faisceau de lecture sur des zones de reconnaissance. Le schéma de la figure 5 montre une matrice de 6 x 6 zones de reconnaissance moléculaire 30. La référence 31 représente le balayage
10 du faisceau de lecture sur la biopuce. Chaque zone de reconnaissance moléculaire a par exemple une dimension de 30 μm x 30 μm . Le balayage s'effectue en lignes aller et retour.

D'autres méthodes de balayages peuvent être utilisées pour mieux couvrir l'ensemble de la surface
15 ou mieux s'accorder avec un système mécanique fiable. La méthode aller-retour pose le problème du ralentissement et du changement de sens au niveau de la mécanique. La figure 6 représente un deuxième exemple de balayage possible. Le balayage 32 est en spirale, ce
20 qui évite les ralentissements.

La figure 7 montre une répartition possible des points de lecture 41 obtenus sur une zone de reconnaissance moléculaire 40 grâce à la présente invention.

REVENDICATIONS

1. Biopuce comportant une pluralité de zones de reconnaissance moléculaire utiles réparties
5 selon un agencement déterminé pour constituer un format de zones de reconnaissance moléculaire et des moyens de repérage optique du positionnement de chaque zone de reconnaissance moléculaire (30), répartis selon un agencement déterminé pour constituer un format optique,
10 caractérisée en ce que le format optique et le format de zones de reconnaissance sont des formats réalisés de manière indépendante l'un de l'autre, des moyens de détermination de la position relative des deux formats étant prévus sur la biopuce.
- 15 2. Biopuce selon la revendication 1, caractérisée en ce que les moyens de détermination de la position relative des deux formats sont des zones de reconnaissance moléculaire destinées à recevoir des cibles biologiques spécifiques permettant d'obtenir des
20 motifs fluorescents, ces zones de reconnaissance moléculaire destinées à recevoir des cibles biologiques spécifiques étant disposées à des endroits parfaitement localisés par rapport aux zones de reconnaissance moléculaire utiles.
- 25 3. Biopuce selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisée en ce que les moyens de repérage optique sont constitués d'une succession de zones gravées (2) et non gravées (3).
- 30 4. Biopuce selon la revendication 3, caractérisée en ce que les zones gravées (2) et non gravées (3) constituent un damier.

5. Biopuce selon la revendication 4, caractérisée en ce que les zones du damier présentent des directions obliques par rapport aux zones de reconnaissance moléculaire.

5 6. Biopuce selon l'une quelconque des revendications 3 à 5, caractérisée en ce que la surface de chaque zone de reconnaissance est plus grande que la surface d'une zone gravée ou d'une zone non gravée du format optique.

10 7. Biopuce selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisée en ce que les zones de reconnaissance moléculaire sont disposées sur le format optique.

15 8. Biopuce selon la revendication 7, caractérisée en ce qu'une couche, ou un empilement de couches minces, favorisant la réflexion d'un faisceau optique de suivi du format optique est disposée entre le format optique et les zones de reconnaissance moléculaire.

20 9. Dispositif de lecture d'une biopuce (10) telle que définie dans la revendication 1, comprenant :

- une première tête optique apte à projeter sur la biopuce une première lumière incidente,
- des premiers moyens permettant
- 25 d'effectuer un balayage de la biopuce par la première lumière incidente,
- une deuxième tête optique apte à projeter sur la biopuce une deuxième lumière incidente,
- des deuxièmes moyens permettant
- 30 d'effectuer un balayage de la biopuce par la deuxième lumière incidente,

- 5 - un premier système optique associé à une tête optique pour projeter sur un premier capteur optoélectronique une première lumière provenant de la biopuce en relation avec la première lumière incidente et mettant en évidence la présence ou l'absence de molécules cibles sur chaque zone de reconnaissance moléculaire, le premier capteur optoélectronique étant apte à fournir des signaux correspondant à la première lumière,
- 10 - un deuxième système optique associé à une tête optique pour projeter sur un deuxième capteur optoélectronique une deuxième lumière provenant du format optique de la biopuce en relation avec la deuxième lumière incidente, le deuxième capteur optoélectronique étant apte à fournir des signaux correspondant à la deuxième lumière,
- 15 - des premiers moyens d'enregistrement d'au moins une partie des signaux correspondant à la première lumière,
- 20 - des deuxièmes moyens d'enregistrement d'au moins une partie des signaux correspondant à la deuxième lumière,
- 25 - des moyens de traitement desdits signaux pour ajuster, sur une biopuce fictive et en fonction des moyens de détermination de la position relative des deux formats, les signaux correspondant à la première lumière et les signaux correspondant à la deuxième lumière.
- 30 10. Dispositif selon la revendication 9, caractérisé en ce que la première tête optique et la deuxième tête optique sont confondues.

11. Dispositif selon l'une des
revendications 9 ou 10, caractérisé en ce qu'il
comporte un système mécanique, ou système autofocus,
permettant de conserver la focalisation du faisceaux de
5 lecture à la surface de la biopuce.

12. Dispositif selon la revendication 11,
caractérisé en ce que le système d'autofocus comprend
un actionneur piézoélectrique et des moyens
d'asservissement de cet actionneur.

1 / 4

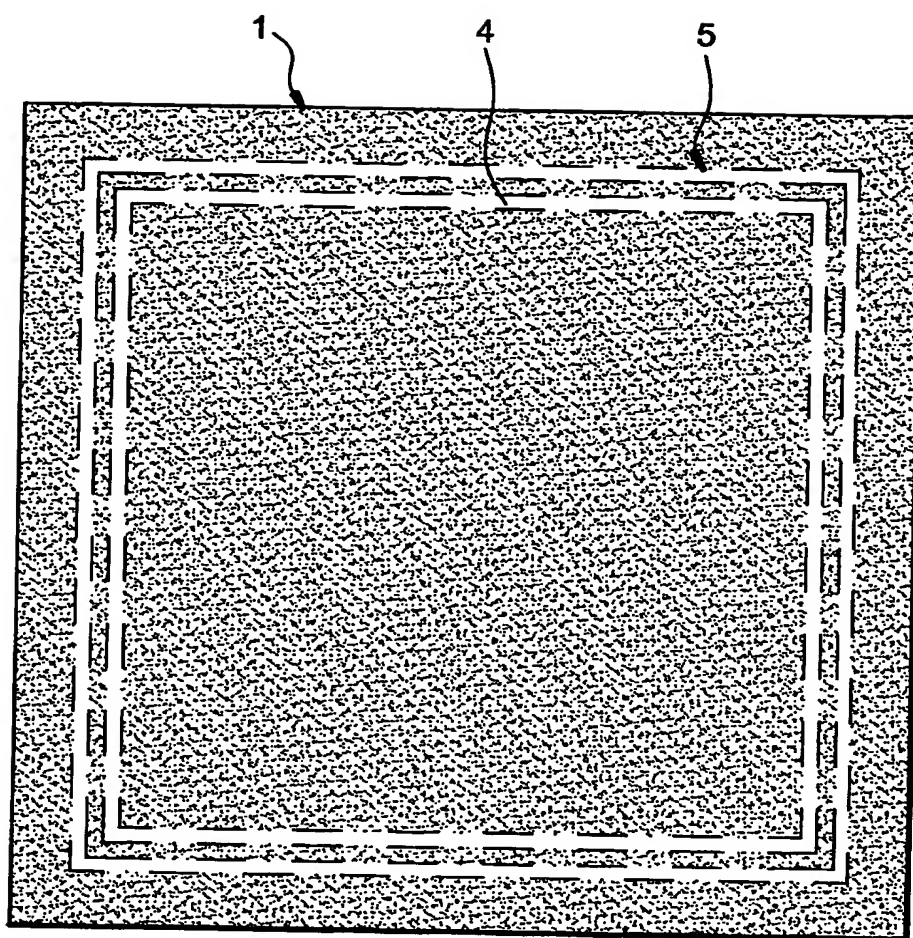


FIG. 1

2 / 4

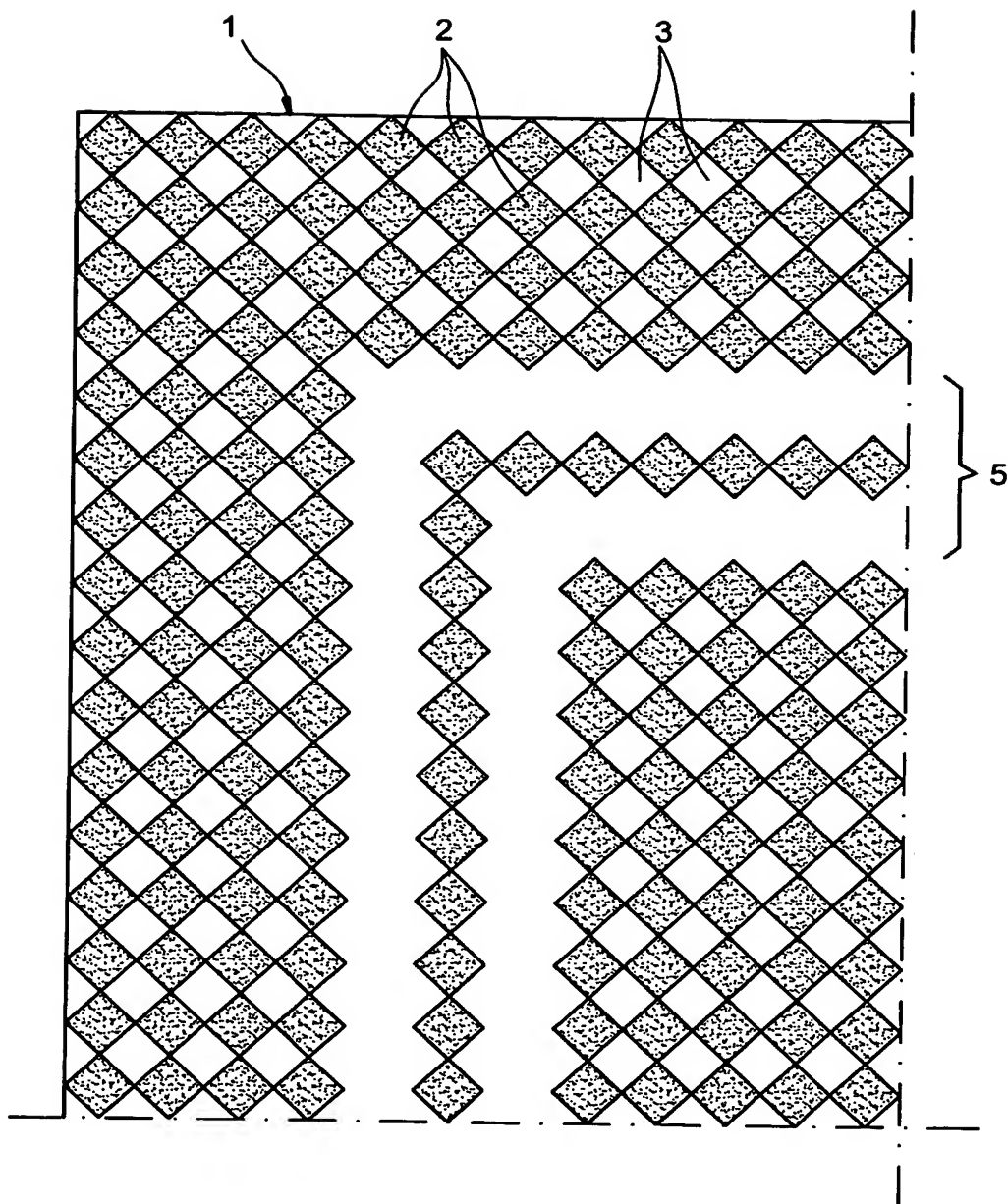


FIG. 2

3 / 4

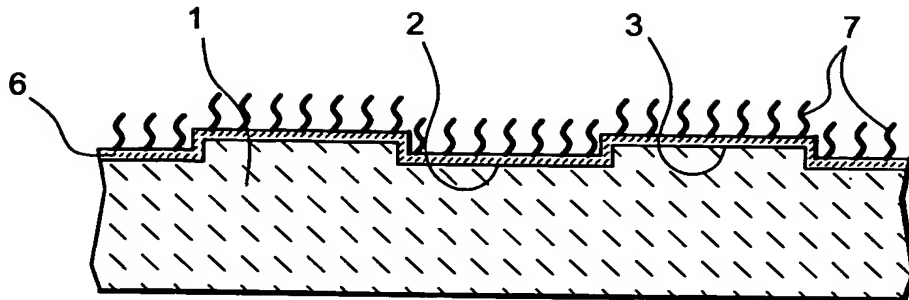


FIG. 3

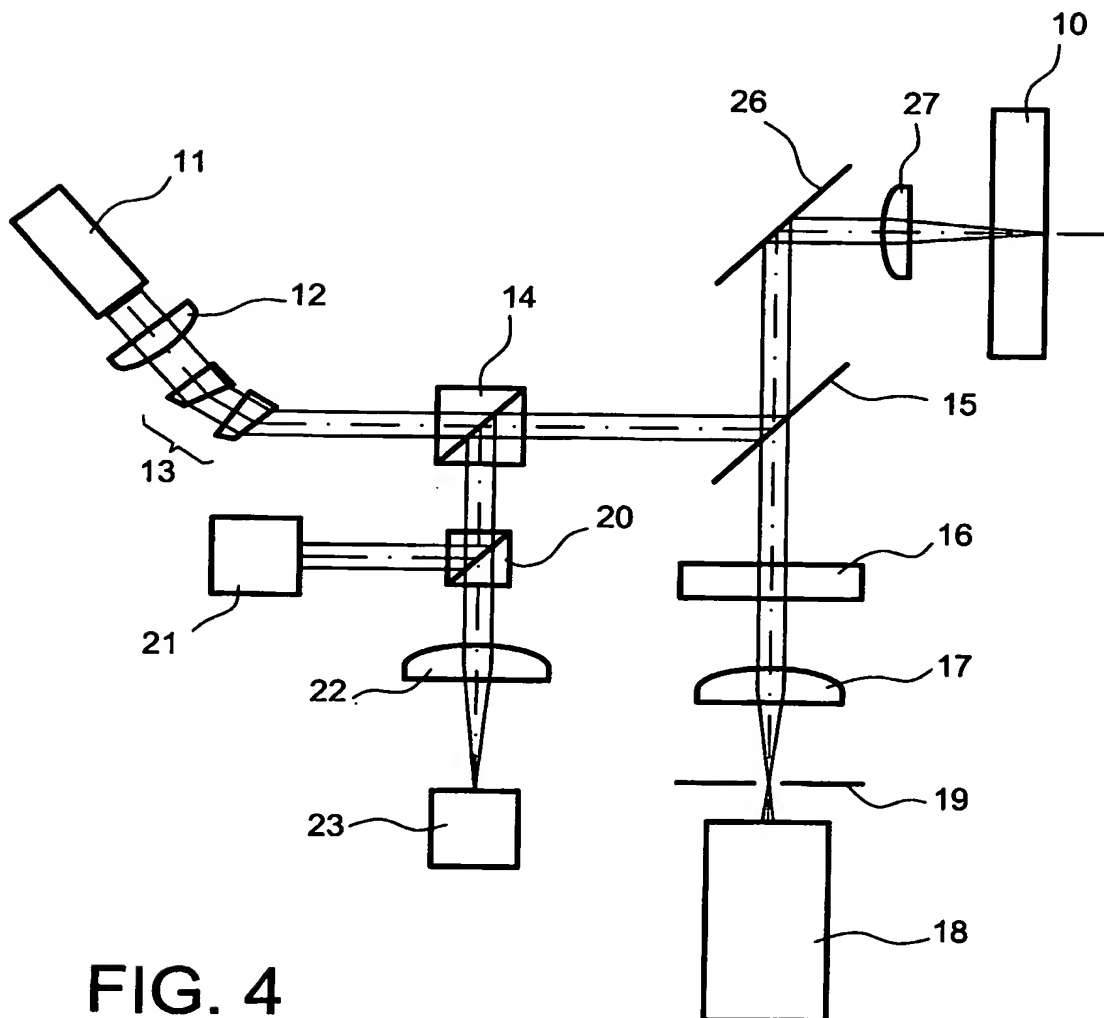


FIG. 4

4 / 4

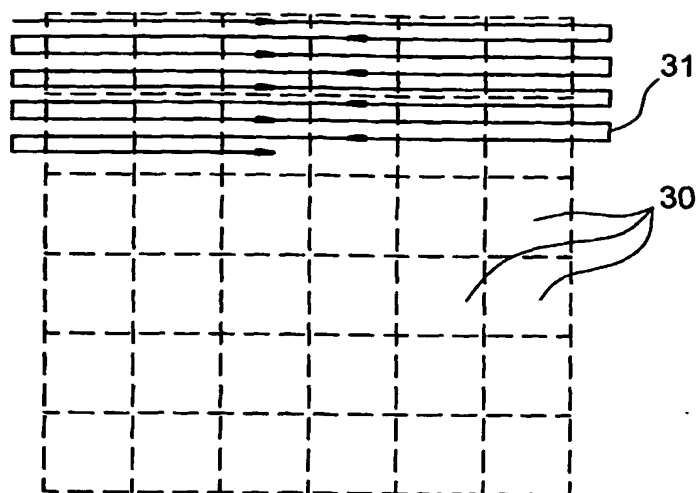


FIG. 5

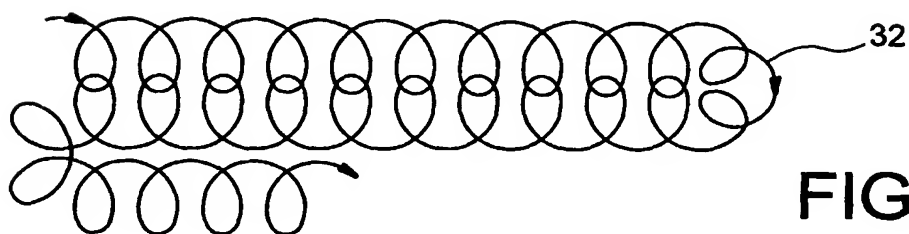


FIG. 6

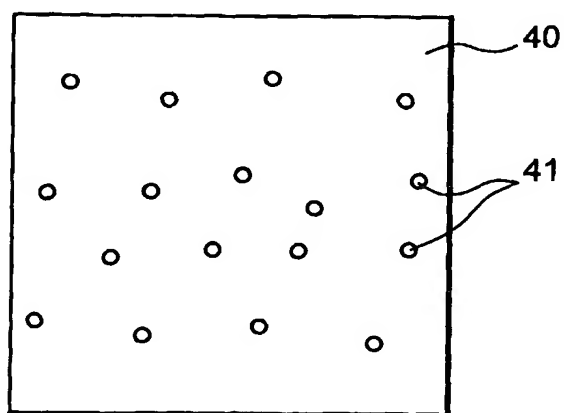


FIG. 7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/FR2004/050162

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 G01N21/25 G01N21/64 B01L3/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G01N B01L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|---|-----------------------|
| X | US 6 537 801 B1 (FARGEIX ALAIN ET AL) 25 March 2003 (2003-03-25) cited in the application | 9 |
| Y | column 9, line 7 -column 17, line 14; figures 1-7 | 1,9 |
| A | | 2,10,11 |
| Y | US 5 721 435 A (TROLL MARK A) 24 February 1998 (1998-02-24) column 3, line 33 -column 6, line 59; figures 1-3 | 1,9 |
| A | WO 98/01533 A (BURSTEIN LAB INC) 15 January 1998 (1998-01-15) page 4, line 18 -page 5, line 35 page 51, line 1 -page 52, line 14 page 64, line 29 -page 65, line 10; claims 1,2; figures 11-14 | 1,9 |
| | --- -/-- --- | |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *A* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 September 2004

Date of mailing of the international search report

24/09/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Stuebner, B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/FR2004/050162

| C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
|--|---|-----------------------|
| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| A | WO 01/06395 A (GSI LUMONICS LIFE SCIENCE TRUS ;YANG JUN (CN); NOBLETT DAVID A (US) 25 January 2001 (2001-01-25) page 1, line 5 -page 3, line 2; claim 1; figures 1-4,12 ----- | 1,9 |
| A | US 5 083 035 A (KREN GEORGE ET AL) 21 January 1992 (1992-01-21) column 1, line 48 -column 2, line 30 ----- | 1,9 |
| A | KUKLIN A ET AL: "HIGH THROUGHPUT SCREENING OF GENE EXPRESSION SIGNATURES" GENETICA, KLUWER ACADEMIC PRESS, DORDRECHT, NL, vol. 108, no. 1, 2000, pages 41-46, XP001095704 ISSN: 0016-6707 document entier ----- | 1,9 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Application No

PCT/FR2004/050162

| Patent document cited in search report | | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|----|---------------------|----------------------------|---------------------|
| US 6537801 | B1 | 25-03-2003 | FR 2784188 A1 | 07-04-2000 |
| | | | FR 2784189 A1 | 07-04-2000 |
| | | | AU 772833 B2 | 06-05-2004 |
| | | | AU 5870699 A | 26-04-2000 |
| | | | CA 2345372 A1 | 13-04-2000 |
| | | | EP 1119769 A1 | 01-08-2001 |
| | | | WO 0020861 A1 | 13-04-2000 |
| | | | JP 2002526773 T | 20-08-2002 |
| US 5721435 | A | 24-02-1998 | NONE | |
| WO 9801533 | A | 15-01-1998 | AU 725065 B2 | 05-10-2000 |
| | | | AU 3958597 A | 02-02-1998 |
| | | | BR 9710702 A | 11-01-2000 |
| | | | CA 2260361 A1 | 15-01-1998 |
| | | | CN 1230216 A | 29-09-1999 |
| | | | EP 0918845 A1 | 02-06-1999 |
| | | | IL 127938 A | 12-09-2002 |
| | | | JP 2002514046 T | 14-05-2002 |
| | | | KR 2000023613 A | 25-04-2000 |
| | | | NZ 333907 A | 29-09-2000 |
| | | | WO 9801533 A1 | 15-01-1998 |
| | | | US 6200755 B1 | 13-03-2001 |
| | | | US 6342349 B1 | 29-01-2002 |
| | | | US 2001016316 A1 | 23-08-2001 |
| | | | US 2002106661 A1 | 08-08-2002 |
| | | | US 6331275 B1 | 18-12-2001 |
| | | | US 2002076723 A1 | 20-06-2002 |
| | | | US 2003054376 A1 | 20-03-2003 |
| WO 0106395 | A | 25-01-2001 | US 6754375 B1 | 22-06-2004 |
| | | | WO 0106395 A2 | 25-01-2001 |
| US 5083035 | A | 21-01-1992 | JP 3115354 B2 | 04-12-2000 |
| | | | JP 7012746 A | 17-01-1995 |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

PCT/FR2004/050162

| A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE CIB 7 G01N21/25 G01N21/64 B01L3/00 | | |
|---|---|--|
| Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB | | |
| B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) CIB 7 G01N B01L | | |
| Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche | | |
| Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, WPI Data, PAJ | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS | | |
| Catégorie * | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
| X | US 6 537 801 B1 (FARGEIX ALAIN ET AL) 25 mars 2003 (2003-03-25) cité dans la demande | 9 |
| Y | colonne 9, ligne 7 -colonne 17, ligne 14; figures 1-7 | 1,9 |
| A | --- | 2,10,11 |
| Y | US 5 721 435 A (TROLL MARK A) 24 février 1998 (1998-02-24) colonne 3, ligne 33 -colonne 6, ligne 59; figures 1-3 | 1,9 |
| A | WO 98/01533 A (BURSTEIN LAB INC) 15 janvier 1998 (1998-01-15) page 4, ligne 18 -page 5, ligne 35 page 51, ligne 1 -page 52, ligne 14 page 64, ligne 29 -page 65, ligne 10; revendications 1,2; figures 11-14 --- -/- | 1,9 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe | | |
| * Catégories spéciales de documents cités: "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "G" document qui fait partie de la même famille de brevets | | |
| Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 14 septembre 2004 | | Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 24/09/2004 |
| Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016 | | Fonctionnaire autorisé Stuebner, B |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

PCT/FR2004/050162

| C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS | | |
|---|---|-------------------------------|
| Catégorie | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
| A | WO 01/06395 A (GSI LUMONICS LIFE SCIENCE TRUS ;YANG JUN (CN); NOBLETT DAVID A (US) 25 janvier 2001 (2001-01-25) page 1, ligne 5 -page 3, ligne 2; revendication 1; figures 1-4,12 ----- | 1,9 |
| A | US 5 083 035 A (KREN GEORGE ET AL) 21 janvier 1992 (1992-01-21) colonne 1, ligne 48 -colonne 2, ligne 30 ----- | 1,9 |
| A | KUKLIN A ET AL: "HIGH THROUGHPUT SCREENING OF GENE EXPRESSION SIGNATURES" GENETICA, KLUWER ACADEMIC PRESS, DORDRECHT, NL, vol. 108, no. 1, 2000, pages 41-46, XP001095704 ISSN: 0016-6707 document entier ----- | 1,9 |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements

membres de familles de brevets

PCT/FR2004/050162

| Document brevet cité au rapport de recherche | | Date de publication | Membre(s) de la famille de brevet(s) | Date de publication |
|---|----|------------------------|---|------------------------|
| US 6537801 | B1 | 25-03-2003 | FR 2784188 A1 | 07-04-2000 |
| | | | FR 2784189 A1 | 07-04-2000 |
| | | | AU 772833 B2 | 06-05-2004 |
| | | | AU 5870699 A | 26-04-2000 |
| | | | CA 2345372 A1 | 13-04-2000 |
| | | | EP 1119769 A1 | 01-08-2001 |
| | | | WO 0020861 A1 | 13-04-2000 |
| | | | JP 2002526773 T | 20-08-2002 |
| US 5721435 | A | 24-02-1998 | AUCUN | |
| WO 9801533 | A | 15-01-1998 | AU 725065 B2 | 05-10-2000 |
| | | | AU 3958597 A | 02-02-1998 |
| | | | BR 9710702 A | 11-01-2000 |
| | | | CA 2260361 A1 | 15-01-1998 |
| | | | CN 1230216 A | 29-09-1999 |
| | | | EP 0918845 A1 | 02-06-1999 |
| | | | IL 127938 A | 12-09-2002 |
| | | | JP 2002514046 T | 14-05-2002 |
| | | | KR 2000023613 A | 25-04-2000 |
| | | | NZ 333907 A | 29-09-2000 |
| | | | WO 9801533 A1 | 15-01-1998 |
| | | | US 6200755 B1 | 13-03-2001 |
| | | | US 6342349 B1 | 29-01-2002 |
| | | | US 2001016316 A1 | 23-08-2001 |
| | | | US 2002106661 A1 | 08-08-2002 |
| | | | US 6331275 B1 | 18-12-2001 |
| | | | US 2002076723 A1 | 20-06-2002 |
| | | | US 2003054376 A1 | 20-03-2003 |
| WO 0106395 | A | 25-01-2001 | US 6754375 B1 | 22-06-2004 |
| | | | WO 0106395 A2 | 25-01-2001 |
| US 5083035 | A | 21-01-1992 | JP 3115354 B2 | 04-12-2000 |
| | | | JP 7012746 A | 17-01-1995 |